

نقش میکرو RNA ها در سقط خودبخودی مکرر

● دکتر صادق ولیان بروجنی

استاد ژنتیک دانشگاه اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم

گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک

svallian@sci.ui.ac.ir

● فاطمه کریمی خوزانی

کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم

گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک

چکیده

می‌تواند در سطح رونویسی و نیز پس از رونویسی انجام شود. بیان این میکرو RNA تحت تنظیمات بسیار دقیقی قرار دارد و برهم خوردن این نظم با انواع بیماری‌ها در ارتباط است. مطالعات نشان داده است که برخی از این میکرو RNA ها طی بارداری دچار کاهش بیان و تعداد دیگری دچار افزایش بیان می‌شوند و این تغییرات بر روی میزان بیان ژن‌های هدف آن‌ها تأثیر زیادی دارد. یکی از دلایلی که می‌تواند باعث تغییرات بیانی در میکرو RNA ها شود، تغییرات تک نوکلئوتیدی در ژن‌های رمز کننده این میکرو RNA ها در ژنوم می‌باشد. در این نوشتار نقش و اهمیت میکرو RNA در سقط مکرر بررسی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: سقط مکرر، میکرو RNA، ژن ERBB2،
ژن LIF، rs12976445، MIR-125a

مقدمه

سقط جنین

سقط جنین یکی از شایع‌ترین مشکلات در دوران بارداری انسان می‌باشد. تعاریف زیادی برای این پدیده وجود دارد، اما پذیرفته شده‌ترین تعریف برای آن توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال ۱۹۷۷ انجام

سقط جنین به پدیده از دست دادن جنین قبل از هفته ۲۰ حاملگی گفته می‌شود. سقط جنین یکی از عوارض شایع در حاملگی می‌باشد و علت وقوع آن در بسیاری از موارد ناشناخته باقی می‌ماند. عوامل شناخته شده برای سقط شامل ناهنجاری‌های ساختاری در رحم، ناهنجاری‌های ژنتیکی، بیماری‌های خودایمنی، نقایص هورمونی، نقایص انعقادی و ترومبوفیلی، تخمدان پلی کیستیک، چاقی و سبک زندگی می‌باشد. سقط از لحاظ جسمی و روحی آسیب‌های فراوانی بر زوجین می‌گذارد، به ویژه هنگامی که به صورت مکرر رخ دهد. کشف و شناسایی مارکرهای زیستی مرتبط با سقط می‌تواند کمک موثری در تشخیص عارضه و پیشگیری از آن را فراهم نماید. در میان مارکرهای زیستی شناخته شده میکرو RNA ها دارای پتانسیل بالایی هستند. تشخیص براساس تغییرات مولکولی و تغییرات بیان میکرو RNAهایی که در سقط دچار تغییر می‌شوند، می‌تواند به شناخت افراد مستعد سقط جنین یا پیشگیری از آن کمک زیادی نماید. میکرو RNA ها گروهی از RNA های غیر کد کننده می‌باشند که بیان بخش زیادی از ژن‌های بدن را تنظیم می‌کنند. این تنظیم

1- World Health Organization (WHO)



سقط و گاهی سه سقط یا بیشتر را تحت عنوان سقط مکرر در نظر می‌گیرند. وقوع دو سقط، یک در هر ۴۵ زن باردار، سه سقط، یک در هر ۲۰۰۰ زن باردار و ۵ یا ۶ سقط یک در ۹۰۰۰۰ زن باردار است [۵]. در سال ۲۰۰۱، کالج متخصص زنان و زایمان آمریکا^۳ سقط مکرر را از دست دادن دو یا سه یا تعداد بیشتر بارداری تعریف کرد، در سال ۲۰۱۲ نیز کمیته آمریکایی پزشکی باروری^۴ سقط مکرر را به عنوان یک بیماری مشخص از ناباروری تعریف کرد که طی آن سقط جنین در سه یا تعداد بیشتری از حاملگی رخ دهد [۵].

کمتر از ۵٪ زنان دو سقط جنین متوالی و فقط ۱-۲٪ از زنان سه سقط یا بیشتر را تجربه می‌کنند [۹] و [۸]. اطلاعات قابل اتکایی برای تخمین میزان سقط ۲ یا ۳ بار متوالی وجود ندارد. طبق بهترین اطلاعات موجود حدس زده می‌شود که میزان وقوع دو سقط متوالی ۳۰٪ و میزان وقوع سه سقط متوالی ۳۳٪ برای افرادی است که هیچ گونه سابقه تولد زنده را نداشته‌اند [۲]. به عنوان مثال، خطرات بعد از یک سقط جنین برای زنان با یک، دو، سه و چهار حاملگی قبلی به ترتیب ۲۲/۷، ۲۴/۱، ۲۵/۱ و ۲۵/۸٪ است. پس از دو سقط جنین، خطرات مربوط به زنان با دو، سه و چهار حاملگی قبلی به ترتیب ۲۸/۶، ۲۷/۶ و ۲۶/۳٪ است [۱۰].

سقط مکرر (RPL) به دو دسته اولیه و ثانویه تقسیم می‌شود. RPL اولیه اشاره به سقط مکرر در زانی دارد که در آن بیمار هرگز تولد زنده نداشته و RPL ثانویه اشاره به سقط مکرر در زانی دارد که قبلاً تولد زنده داشته‌اند، توضیحات بیشتر در جدول ۱ آمده است [۶].

میزان ابتلا به سقط مکرر به دلیل نبود تعریف ثابت برای RPL، دسترسی محدود به بافت‌ها برای مطالعه، تشخیص و پیش‌آگهی‌های قابل توجه برای تولد زنده در بیماران با RPL منجر به عدم دسترسی به اهداف درمانی و تشخیصی در این بیماران شده است [۸].

شده است که به صورت سقط جنین یعنی از دست دادن بارداری قبل از هفته ۲۰ یا ۲۴ بارداری یا تولد جنین با وزن ۵۰۰ گرم یا کمتر می‌باشد [۱]. بروز سقط جنین در میان حاملگی‌های بالینی در سراسر جهان حدود ۱۵-۱۰٪ گزارش شده است، که اکثراً در ۳ ماهه اول بارداری رخ می‌دهد و می‌توان گفت بسیاری از بارداری‌ها قبل از این که تشخیص داده شوند یعنی قبل از هفته ۸ بارداری به سقط می‌انجامند [۲]. البته اگر تلفات اولیه بارداری هم در نظر گرفته شوند این آمار افزایش می‌یابد ولی چون حدود ۱۴ روز پس از تخمک گذاری و نزدیک قاعدگی بعدی رخ می‌دهد، معمولاً با خونریزی قاعدگی اشتباه گرفته می‌شود و در بررسی‌ها محاسبه نمی‌شوند. میزان بروز حوادث اولیه بارداری حدود ۲۲-۱۷٪ درصد است [۳] و [۱].

براساس زمان وقوع سقط تعاریف متعددی برای آن ارائه می‌شود، به پدیده سقط قبل از هفته ۱۰ از دست دادن رویمان و بین هفته ۱۰ تا ۲۰ (یا ۲۴) از دست دادن جنین گفته می‌شود [۵] و [۴]. در برخی از مطالعات نیز گزارش شده است که سقط خودبخودی در حدود ۲۵-۱۵٪ از همه حاملگی‌ها رخ می‌دهد [۶]. طبق مطالعات انجام شده ۲۲٪ از کل حاملگی‌ها هرگز تشخیص داده نمی‌شوند [۳] و آمارها نشان می‌دهد، ۵-۱٪ از کل زوج‌ها در دنیا تحت تأثیر پدیده سقط خودبخودی جنین قرار می‌گیرند [۷] و تنها ۳۰٪ از بارداری‌ها به تولد نوزاد زنده می‌انجامد. از دست دادن حاملگی اثرات جسمی و روحی فراوانی بر زوج‌ها می‌گذارد به ویژه هنگامی که به صورت مکرر رخ می‌دهد [۸] و [۲].

□ سقط مکرر خودبخودی

سقط مکرر^۲ به دست دادن دو یا تعداد بیشتری از حاملگی‌ها قبل از هفته ۲۰ یا ۲۴ به صورت متوالی یا متناوب تعریف می‌شود و بارداری‌های خارج رحمی، مولار و بیوشیمیایی را شامل نمی‌شود [۶] و [۲]. البته برای سقط مکرر جنین نیز تعاریف متعددی ارائه شده است گاهی دو

2- Recurrent pregnancy loss (RPL)

3- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)

4- American Society for Reproductive Medicine Practice Committee

جدول ۱: اصلاحات رایج در زمینه سقط، انواع آن و تفسیر هر کدام از اصلاحات [۱۱].

حاملگی	حاملگی بر اساس مدارک سونوگرافی یا بافت شناسی جنین
سقط بالینی	از دست دادن جنین قبل از هفته ۲۰ بارداری
حاملگی	تشخیص هورمون بتا HCG در ادرار یا سرم خون قبل از ارزیابی بالینی
دسته بندی سقط (کلاسیک)	از دست رفتن جنین سه قبل از هفته ۲۰ حاملگی به استثنای حاملگی های مولار، خارج رحمی
سقط اولیه	سقط در فردی که هرگز بارداری زنده نداشته است
سقط ثانویه	سقط در فردی که حداقل یک بارداری زنده داشته است

□ عوامل مؤثر در سقط جنین

ناباروری و سقط دو مشکل عمده تولید مثل هستند که در بسیاری از موارد دلایل هم پوشانی برای آن ها ذکر می شود. تعدادی از شرایط پاتولوژیک با سقط و ناباروری همراه هستند، مشکلاتی از جمله تخمدان پلی کیستیک^۵، نقایص دیواره رحم^۶ و فیبروئید رحم^۷ بیشترین فراوانی

را در افراد نابارور دارند و همچنین در سقط های مکرر نیز گزارش شده اند [۱۲]. برای سقط خودبخودی دلایل زیادی مطرح شده است که مهم ترین عوامل در جدول ۲ لیست شده است، سقط خودبخودی جنین شامل عوامل شناخته شده و عوامل ناشناخته می باشد [۸].

جدول ۲: دلایل اصلی و شناخته شده برای سقط و مثال هایی برای هر کدام از عوامل [۸].

سبب شناسی	تشخیص پیشنهادی: ارزیابی
هورمونی	بررسی مقاومت به انسولین، پرولاکتین خون، بررسی آنتی بادی های ضد تیروئید
عفونت	ارزیابی تنها در موارد اندومترئوز حاد یا کمبود ایمنی توصیه می شود
خودایمنی	بررسی سطح آنتی بادی های آنتی کاردیو لیپین و آنتی کواگولانت های لوپوس
ترومبوفیلی غیر سندرمی (سندرم آنتی فسفولیپید)	بررسی هموسیستئین، فاکتور V لیدن، جهش در پروموتور پروترومبین، مقاومت به پروتئین C فعال شده

از مهم ترین دلایل سقط می توان به ناهنجاری های کروموزومی، ناهنجاری های ژنی، ناهنجاری های ساختاری رحم، بیماری های ایمونولوژیک، ترومبوفیلی های ارثی یا اکتسابی، بیماری های هورمونی مانند مشکلات تیروئیدی، دیابت ملیتوس کنترل نشده، بیماری هایی مثل سندرم آنتی بادی آنتی فسفولیپید، عوامل عفونی، کیفیت و

ویژگی های اسپرم، سن والدین، عوامل محیطی و سبک زندگی اشاره کرد. کلیه این عوامل فقط علت ۵۰٪ از سقطها را توجیه می کند و علی رغم همه پیشرفت ها هنوز علت سقط در ۵۰٪ موارد ناشناخته باقی می ماند [۹ و ۸ و ۶ و ۲]. عوامل سقط و سهم هر یک از عوامل در سقط در شکل ۱ نشان داده شده است.

5- Polycystic ovarian

6- Uterin septum

7- Uterin fibroid



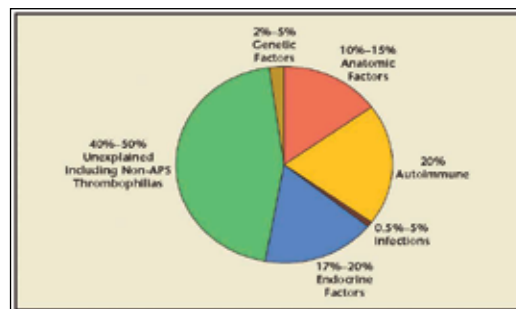
برخی از زوج‌ها واجد فاکتورهای ژنتیکی هستند که خطر سقط جنین را افزایش می‌دهند [۷].

□ میکرو RNA^{۱۰} و سقط جنین

میکرو RNA ها از عوامل ژنتیکی جدید مؤثر در سقط جنین می‌باشند که با تغییرات بیان ژن‌ها نقش خود را ایفا می‌کنند. میکرو RNA ها، RNA های کدکننده غیر پروتئینی هستند و حدود ۲۲ نوکلئوتید طول دارند و موجب خاموش شدن ژن‌ها در سطح پس از رونویسی می‌شوند. اعتقاد بر این است که میکرو RNA ها تقریباً بیان یک سوم از ژنوم انسان را تنظیم می‌کنند. پیشنهاد شده است که چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی^{۱۱} (SNP) در توالی‌های میکرو RNA می‌تواند به طور بالقوه بر عملکرد تنظیم کننده آن‌ها تأثیر بگذارد و برخی مطالعات ارتباط میکرو RNA ها با RPL، را نشان داده‌اند تحقیقات بیشتری برای نقش میکرو RNA ها نیاز است [۹].

□ سنتز میکرو RNA

اکثر میکرو RNA ها توسط RNA پلی مراز II^{۱۲} در هسته رونویسی می‌شوند و میکرو RNA اولیه^{۱۳} (pri-mir) ایجاد می‌شود و سپس تغییرات کلاسیک گذاری، پیرایش و پلی آدنیلاسیون روی آن انجام می‌گیرد [۱۶]. میکرو RNA اولیه سپس تحت پردازش کمپلکس ریز پردازنده^{۱۴} که شامل یک آنزیم RNase (Drosha) است و کوفاکتور آن DGCR8^{۱۵} قرار می‌گیرد. در اثر فعالیت این کمپلکس یک RNA دو رشته با طول ۶۰-۷۰ نوکلئوتید و حاوی ساختار سنجاق سری ایجاد می‌شود که در این حالت به آن pre-mir گفته می‌شود [۱۷]. دروشا دارای دو دومین RNase III می‌باشد که هر کدام یکی از رشته‌های pri-mir را برش می‌دهند و pre-mir را ایجاد می‌کنند. این کمپلکس قطعه ای حدود



شکل ۱ - عوامل مهم مؤثر در سقط جنین و سهم نسبی هر کدام از عوامل [۸].

برخی از مطالعات دیگر عنوان کرده‌اند که علت سقط در ۳۷-۷۹٪ از زنان مبتلا ناشناخته باقی می‌ماند و گفته شده است که بیش از ۵۰٪ موارد سقط مکرر خودبخودی^۸ به عنوان ایدیوپاتیک یا ناشناخته (URSA)^۹ طبقه بندی می‌شوند و مکانیسم‌های آن به طور کامل درک نمی‌شوند [۷ و ۱۳].

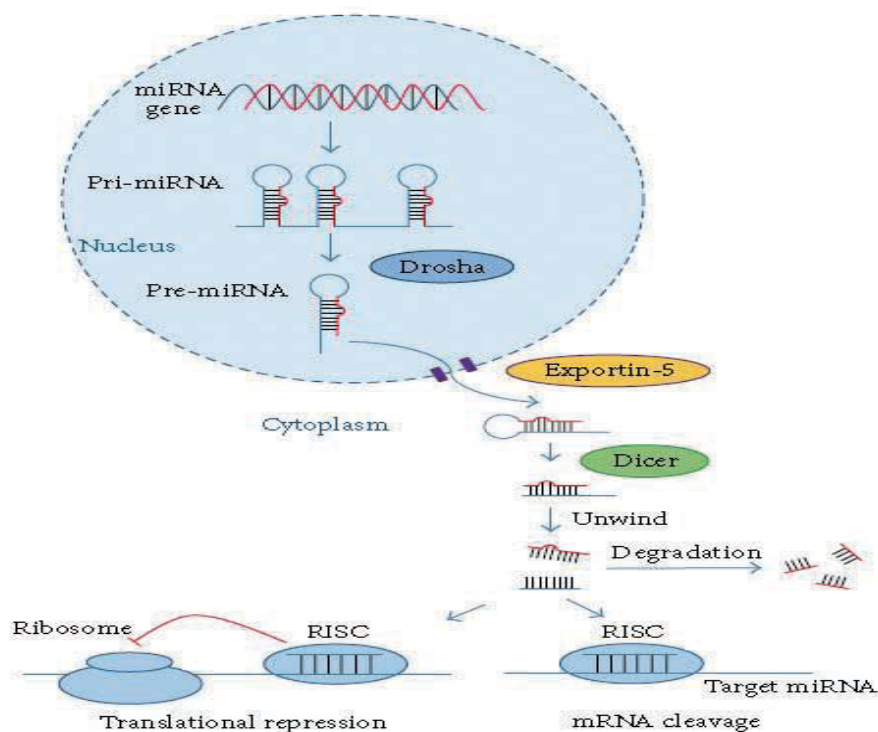
بررسی‌ها نشان داده است که حدود ۲۵٪ از سقط جنین‌ها با اصلاح عوامل خطر ساز قابل پیشگیری و درمان می‌باشند [۱۴]. تشخیص علت سقط نیاز به آزمایش‌های متعدد برای تشخیص وضعیت کروموزوم‌های والدین، ترومبوفیلی‌های مادرزادی، اختلالات غدد درون ریز، اختلالات ایمنی سبک زندگی، نقایص تشریحی رحم و عفونت مادران دارد [۷ و ۱۳]. طبق برخی از مطالعات احتمالاً با مصرف ویتامین‌ها، میوه‌های تازه، سبزیجات و احساس آرامش و شادابی در دوران بارداری خطر ابتلا به سقط جنین کاهش می‌یابد، البته برای تأیید این یافته‌ها به تحقیقات بیشتری نیاز است [۱۵].

علاوه بر این عوامل خطر ساز محیطی و سبک زندگی شواهد فراوانی وجود دارد که نشان می‌دهد سقط مکرر جنین دارای استعداد ژنتیکی است و معمولاً سابقه خانوادگی نشان می‌دهد. مطالعات گسترده ژنومی نشان داده است که

- 8- Recurrent Spontaneous Abortion (RSA)
- 9- Unknown Recurrent Spontaneous Abortion (URSA)
- 10- MicroRNA (miRNA)
- 11- Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
- 12- RNA Polymerase II
- 13- Primary microRNA
- 14- Micro processor
- 15- Double-strand RNA (dsRNA)-binding protein DiGeorge Syndrome Critical

این فرآیند به Dicer کمک می‌کند. این پروتئین برای عملکرد Dicer ضروری نیست اما در افزایش کارایی Dicer در ایجاد شکست و نیز در انتخاب رشته راهنما برای کمپلکس RISC^{۱۹} نقش دارد [۲۰-۲۲]. پس از آن که میکرو RNA بالغ سنتز شد، یک رشته از آن با پروتئین آرگونات (AGO)^{۲۰} تشکیل کمپلکسی به نام RISC را می‌دهد که سبب تخریب mRNA هدف در سطح پس از رونویسی می‌شود. میکرو RNA ها به سمت ۳' مولکول mRNA هدف، که ناحیه ۳' ترجمه نشده^{۲۱} (3'-UTR) است، متصل می‌شوند و این اتصال با نوکلئوتیدهای ۲-۷ میکرو RNA بالغ صورت می‌گیرد [۲۲ و ۱۷]. در شکل ۲ این فرآیند نشان داده شده است.

۱۱ جفت باز از RNA دو رشته ای را در هر دو رشته برش داده و یک ساختار سنجاق سری ایجاد می‌کند که دارای یک سر آویزان^{۱۶} است. در میکرو RNA های گروه I این سر آویزان دو نوکلئوتید و در میکرو RNA های گروه II یک نوکلئوتید طول دارد [۱۸ و ۱۹]. این ساختار توسط پروتئین Exportin5 از هسته خارج و وارد سیتوپلاسم می‌شود و سپس تحت اثر دومین RNase کلاس III این مسیر یعنی دایسر^{۱۷} قرار می‌گیرد. این آنزیم با ایجاد دو برش نامتقارن سبب ایجاد میکرو RNA بالغی می‌شود که ۲۲ نوکلئوتید طول دارد و در انتهای ۳ نیز دارای چند نوکلئوتید اضافی است؛ این ساختار به 3'-overhang معروف است. پروتئین دیگری به نام TRBP^{۱۸} نیز در



شکل ۲: مکانیزم سنتز میکرو RNA ها (جهت توضیحات شکل به متن مراجعه شود) [۲۳].

- 16- Overhang
- 17- Dicer
- 18- Trans activation-responsive RNA-Binding Protein
- 19- RNA-Induced Silencing Complex
- 20- Argonaute
- 21- 3'-UnTranslated Region



□ بیان میکرو RNA و سقط

همان طور که قبلاً اشاره شد میکرو RNA ها در بیان ژن‌ها تأثیر دارند. مشاهده شده که در بسیاری از سقط‌ها با دلایل ناشناخته بیان میکرو RNA ها دچار تغییر شده است. میکرو RNA ها در وقایع مختلف بارداری از جمله لانه‌گزینی جنین، حاملگی خارج رحمی، پره اکلامپسی، زایمان زودرس، وزن کم جنین هنگام تولد و سقط خودبخودی، پاسخ‌های ضد التهابی و نیز لانه‌گزینی جنین نقش بسیار مهمی دارند و در هرکدام از این وقایع بیان میکرو RNA های خاصی دچار تغییر می‌شود و براساس ژن‌های هدف هر کدام وقایع خاصی رخ می‌دهد. در جدول ۱-۴ تغییرات بیان تعدادی از این میکرو RNA ها در سقط‌های خودبخودی نشان داده شده است. در بررسی زنان مبتلا به سقط جنین مکرر دیده شده که miR-133a دچار افزایش بیان شده است و miR-133a با کاهش ترجمه HLA-G با اتصال به 3'-UTR عمل

می‌کند و چون این پروتئین نقش اساسی در تحمل جنین توسط سیستم ایمنی مادر دارد پس کاهش بیان آن در نهایت می‌تواند منجر به سقط خودبخودی شود [۲۴]. مطالعات نشان داد که در زنان مبتلا به سقط مکرر ۴۱ میکرو RNA دچار کاهش بیان و تنها ۴ میکرو RNA افزایش بیان داشتند. تعداد ۷ میکرو RNA نیز دچار افزایش بیان بیش از حد شدند. دو میکرو RNA شامل mir187 و mir125b₂ به طور چشمگیری در زنان مبتلا به سقط جنین دچار افزایش بیان بیش از حد شدند. miR520f, miR3175, 517c, 522, 520h, miR های 591a-1 و 184 افزایش بیان نشان دادند. در مطالعات دیگر نیز miR های 125b و 141, 155, 34a, 125a افزایش بیان و miR34 کاهش بیان در زنان مبتلا به سقط جنین نشان دادند. اطلاعات در مورد تغییرات بیان میکرو RNA ها و ارتباط آن با سقط در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳ تغییرات بیان میکرو RNA در سقط خودبخودی (هفته ۷ بارداری) [۲۴]

نام محقق و سال انتشار	جمعیت مورد مطالعه	تکنیک استفاده شده	افزایش بیان miRNAs	کاهش بیان miRNAs
Wang و همکاران 2012	۱۲ بیمار و ۱۰ کنترل	Microarray +qRT-PCR	miR-133a	-----
Dong و همکاران 2014	۲۰ بیمار و ۱۵ کنترل	Microarray +qRT-PCR	miR-184, miR-187, and miR-125b-2 miR-517c, miR-519a-1 miR-522, miR-520h, miR-184	miR-520f, miR3175, miR4672
Li و Li 2016	۲۰ بیمار و ۲۰ کنترل	qRT-PCR	miR-34a, miR-155 miR-141, miR-125a, and miR-125b	miR-24
Qin و همکاران 2016	۲۷ بیمار و ۲۸ کنترل	miRNAarray + qRTPCR	miR-320b, miR-146b-5p, miR221-3p, and miR-559	miR-101-3p



□ چند شکلی‌های موجود در آنزیم‌های مرتبط با سنتز میکرو RNA ها و ارتباط آن با سقط

در یک مطالعه که در جمعیت چین انجام شد نقش ۷ چند شکلی در آنزیم‌های دایسر و دروشا در مورد کیفیت مایع منی و ارتباط آن با ناباروری و سقط انجام شد. این چند شکلی‌ها شامل rs12323635 و rs13078، rs1057035 و آنزیم دایسر و چندشکلی‌های rs10719، rs2291109، rs17409893 و rs64232 در آنزیم دروشا بررسی شد و نتایج نشان داد که این چند شکلی‌ها با ناباروری و سقط در ارتباط هستند [۲۹].

در یک مطالعه دیگر نقش چند شکلی‌های موجود در آنزیم‌های دخیل در سنتز میکرو RNA از جمله دایسر، دروشا و اکسپورتین ۵ و ارتباط آن با سقط مورد بررسی قرار گرفت. این چند شکلی‌ها شامل rs3742330 در دایسر، rs10719 در دروشا، rs14035 در RAN GTPase، rs11077 در اکسپورتین ۵ بود و در جمعیت کره ای انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که این چند شکلی‌ها با سقط خودبخودی جنین ارتباط دارند [۳۰]. بنابراین براساس مطالعات انجام شده، میکرو RNA ها می‌توانند به عنوان مارکرهای زیستی جدید در سقط خودبخودی مطرح باشند و باید مورد بررسی و تحقیقات بیشتری قرار گیرند.

□ تغییرات تک نوکلئوتیدی در ژن‌های رمز کننده میکرو RNA و ارتباط آن با سقط

تغییرات تک نوکلئوتیدی که درون ژن‌های رمز کننده میکرو RNA ها اتفاق می‌افتد، با تغییر در اختصاصی بودن عملکرد میکرو RNA، باعث تغییر در اتصال به توالی‌های هدف یا تغییر در بیان ژن‌های هدف می‌شود، همچنین با تغییر در فرآیندهای پردازش میکرو RNA می‌تواند باعث تغییر در میزان بیان میکرو RNA شود [۳۱]. این نشانگرهای چند شکلی می‌توانند در تشخیص بیماری‌های ژنتیکی مختلف از جمله انواع سرطان‌ها مورد استفاده قرار گیرند [۳۲]. این نشانگرها برحسب موقعیت قرارگیری در

مشخص شد، اعضای خانواده miR-24 تنظیم کننده p53 هستند و بنابراین در مکانیسم‌های آپوپتوز و تکثیر سلولی نقش دارند. استفاده از میکرو RNA ها به عنوان بیومارکرهای تشخیصی هنوز به طور کامل مشخص نشده است و بررسی‌های بیشتر به منظور تأیید نقش احتمالی این miRNA ها به عنوان بیومارکر برای توضیح سقط‌های مکرر بدون دلیل مورد نیاز است [۲۴]. سنتز و عملکرد میکرو RNA ها تحت کنترل بسیار دقیق قرار دارد و بر هم خوردن این نظم با بروز بیماری‌های نظیر سرطان نیز مرتبط است [۲۶ و ۲۵]. عواملی که این نظم و بیان میکرو RNA را تغییر می‌دهند شامل تغییرات اپی ژنتیک و چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی می‌باشند [۲۷].

□ تغییرات اپی ژنتیک و سقط

تغییرات اپی ژنتیک به کلیه تغییرات در ژنوم اشاره دارد که بدون تغییر در توالی نوکلئوتیدی ژنوم، بیان ژن‌ها را تغییر می‌دهند. تغییرات اپی ژنتیک در هیستون‌ها و نیز در DNA ساختار محلی کروماتین را تعیین می‌کند. این تغییرات نقش مهمی در بیان نواحی کد کننده و غیر کدکننده ایفا می‌کنند [۱۷]. یکی از مکانیسم‌های تغییر بیان میکرو RNA ها تغییرات اپی ژنتیک می‌باشد که این تغییرات به طور عمده نواحی CpG^{۲۲} در پرموتر ژن‌های مختلف رخ می‌دهد و باعث خاموشی یا روشن شدن ژن‌ها می‌شود [۲۸].

□ تغییرات تک نوکلئوتیدی و سقط

تغییرات تک نوکلئوتیدی منجر به تغییر بیان میکرو RNA می‌شود، در سنتز میکرو RNA ها آنزیم‌های متعددی نقش دارند که تغییر بیان هر کدام از این آنزیم‌ها می‌تواند بر میزان بیان میکرو RNA تأثیر گذار باشد. مطالعات زیادی در زمینه بررسی ارتباط این چند شکلی‌ها با سقط جنین و ناباروری انجام شده است که در زیر به تعدادی از آن‌ها اشاره می‌شود.



سقط خودبخودی جنین در ارتباط است. یک مطالعه که به بررسی ارتباط این چند شکلی با سقط جنین در جمعیت چین انجام شد، نقش این میکرو RNA را با سقط نشان داد [۳۶].

پلی مورفسم در ژن miRNA-17HG: در مورد پلی مورفسم‌های موجود در این ژن شامل rs6492538 مطالعاتی در مورد جداسازی زود هنگام جفت از رحم و نیز بیماری‌های قلبی-عروقی انجام شده بود. در مطالعات دیگر نیز نقش این چند شکلی با نقایص و ناهنجاری‌های جفت و نیز سقط جنین مورد بررسی قرار گرفت. این میکرو RNA خوشه‌های 92~MIR17 را شامل می‌شود. بیان بالای MIR-92a باعث مهار تشکیل لوله، مهاجرت سلولی و چسبندگی سلول‌های اندوتلیال می‌شود، در حالی که هیچ تاثیری در بقا و تکثیر سلولی ندارد. بر این اساس، مهار MIR-92a با آنتاگومیر باعث ایجاد آنژیوژنز می‌شود و با بهبود جریان خون در اندام یا ایسکمی میوکارد موجب زنده ماندن بافت در منطقه می‌شود. همچنین مطالعات نشان داده که حذف 92~MIR17 باعث افزایش نقایص قلبی و ریوی در جنین و در نهایت مرگ آن می‌شود. همچنین این میکرو RNA ها منجر به افزایش سقط‌های خودبخودی می‌شوند. MIR17HG در تنظیم TGF-beta دخالت دارد که این پروتئین در رشد و نمو جفت و لانه‌گزینی جنین نقش دارد. دو عضو از خانواده این میکرو RNA شامل MIR-17 و MIR-19b در اوایل حاملگی نقش دارند و کاهش بیان این دو در سقط‌های ۳ ماهه اول به وفور دیده شده است و احتمالاً این دو میکرو RNA در مهاجرت و لانه‌گزینی نقش دارند. در یک مطالعه که در مورد ارتباط این پلی مورفسم‌ها با سقط خودبخودی در جمعیت ایرانی انجام شد، نقش این پلی مورفسم را در سقط نشان داد [۳۷].

پلی مورفسم در ژن miRNA-27a: یک مطالعه که در زنان کره ای انجام شد، ارتباط معناداری بین برخی ژنوتیپ‌های rs895819 در ژن MIR-27a و سطح فولات پلاسما نشان داد. افزایش فولات نقش محافظتی در

ژنوم و درجه هتروزیگوتی آنها دارای ارزش تشخیصی متفاوتی هستند [۳۳] از طرفی این نشانگرهای چند شکلی در جمعیت‌های مختلف دارای فراوانی و درجه هتروزیگوتی متفاوت هستند [۳۴]. این تغییرات تک نوکلئوتیدی تحت عنوان پلی مورفسم شناخته می‌شوند و در مورد ارتباط این پلی مورفسم‌ها با سقط خودبخودی جنین مطالعات مختلفی تاکنون انجام شده است که در ادامه مورد بررسی قرار می‌گیرند.

پلی مورفسم در ژن miRNA-10a: این میکرو RNA در اکثر پستانداران از جمله انسان وجود دارد و تقریباً در اکثر بافت‌های بدن بیان شده و دارای فعالیت‌های مختلفی می‌باشد و با بسیاری از بیماری‌ها ارتباط دارد. در ژن کد کننده این میکرو RNA پلی مورفسم‌های متعددی وجود دارد و ارتباط برخی از پلی مورفسم‌های این میکرو RNA با بیماری‌ها و از جمله سقط مورد مطالعه قرار گرفته است. در یکی از مطالعات انجام شده ارتباط پلی مورفسم rs3809783 A > T با سقط در جمعیت چین بررسی شده است. این پلی مورفسم در pri-miR-10a اتفاق می‌افتد و باعث کاهش شکل بالغ این میکرو RNA می‌شود و یکی از ژن‌های هدف این میکرو RNA ژن Bim می‌باشد و پلی مورفسم فوق باعث افزایش بیان این ژن می‌شود. همچنین این چند شکلی باعث کاهش حساسیت سلول‌ها به پروژسترون و آنتاگونسیت آن یعنی میفپریستون^{۲۳} می‌شود و در مجموع این چند شکلی با افزایش سقط خودبخودی همراه است [۳۵].

پلی مورفسم در ژن miRNA-423: این میکرو RNA در رشد و تکثیر سلولی و نیز مهاجرت سلولی نقش مهمی دارد. یکی از پلی مورفسم‌های موجود در این میکرو RNA چند شکلی rs6505162 می‌باشد که این چند شکلی باعث افزایش شکل بالغ این میکرو RNA می‌شود و چون این میکرو RNA پروتئین PA2G4 را تنظیم می‌کند، در نتیجه در صورت وجود این چند شکلی این پروتئین دچار تغییر در بیان می‌شود و این میکرو RNA با ناهنجاری‌ها و اختلالات ژنتیکی که ایجاد می‌کند با

جلوگیری از سقط جنین دارد، این میکرو RNA به واسطه سطح فولات پلاسما می‌تواند در سقط مؤثر باشد [۳۸]. در مطالعه دیگری نیز ارتباط این پلی مورفسیم با سقط جنین در زنان چینی انجام شد و مشخص شد برخی از ژنوتیپ‌های این ژن با افزایش سقط خودبخودی نقش دارد [۳۹].

پلی مورفسیم در ژن‌های MIR-146a و MIR-149 و **MIR-196a2 و MIR-499**: بررسی‌ها نشان داده است که افزایش بیان MIR-196a2 بر بیان ژن‌های خانواده HOX و مسیر پیام‌رسانی Akt مؤثر است که می‌تواند در ایجاد سقط مؤثر باشند. ژن‌های این خانواده در روند لانه‌گزینی جنین بسیار نقش مهمی دارند. HOXB8 یکی از ژن‌های هدف MIR-196a2 می‌باشد. ژن هدف اصلی برای MIR-499، مهارکننده رونویسی ژن SOX6 می‌باشد و بیان FGF3 را سرکوب می‌کند و این ژن‌ها با سرطان سینه ارتباط دارند. مطالعات نشان داده که MIR-196a2 و MIR-499 با سقط‌های خودبخودی ارتباط دارند و این میکرو RNAها با TP53 و MDM2 نیز ارتباط دارند و در فرآیندهای مختلف سلولی تأثیر دارند. بیان MIR-146a بیان ژن Fas را تنظیم می‌کند. بیان MIR-146a توسط مسیر NF kB تنظیم می‌شود. یکی از ژن‌های هدف مهم MIR-146a ژن SMAD4 می‌باشد که نقش مهمی در عدم تمایز سلول‌های بنیادی رویان به عهده دارد و این کار را به وسیله p21/WAF1/Cip1 انجام می‌دهد. یکی دیگر از ژن‌های هدف MIR-146a ژن Akt و E2F می‌باشد که در سیکل سلولی و رشد نقش دارند. مطالعات زیادی به بررسی ارتباط MIR-146a، MIR-196a2، MIR-149 و MIR-499 با سقط جنین پرداخته‌اند. یکی از این مطالعات در زنان هندی انجام شده و ارتباط MIR-146 و MIR-196a2 با افزایش سقط مشخص شده است [۴۰]. دو مطالعه دیگر نیز در مورد ارتباط این میکرو RNAها با سقط جنین در زنان کره ای انجام شده است و نقش این میکرو RNAها در سقط خودبخودی جنین نشان داده‌اند [۴۱ و ۴۲]. همچنین مطالعاتی در مورد ارتباط این میکرو RNA با نقایص لانه‌گزینی و تخمک‌گذاری در زنان کره ای انجام شده و ارتباط آن‌ها نشان داده شده است [۴۳ و ۴۴]. ارتباط MIR-196a2

با سقط خودبخودی جنین در جمعیت ایرانی نیز انجام شده و مشخص شد که این میکرو RNAها با ایجاد ناهنجاری‌های ژنتیکی می‌توانند در افزایش سقط خودبخودی جنین مؤثر باشند [۴۵].

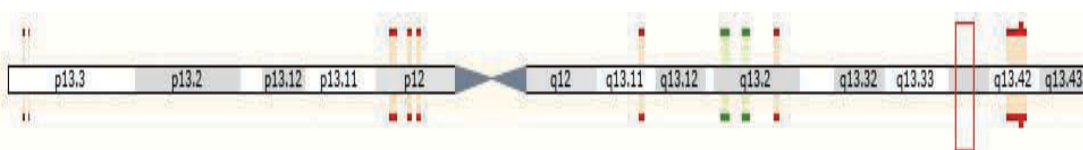
پلی مورفسیم MIR-34a-3p/5p, MIR-141-3p/5p, and MIR-24: بررسی‌ها نشان داده که 5 میکرو RNA شامل MIR-34a، MIR-155، MIR-141، MIR-125a و MIR-125b در زنان مبتلا به سقط خودبخودی جنین دچار افزایش بیان و MIR-24 دچار کاهش بیان شده است. MIR-34a-3p/5p، MIR-24، MIR-141-3p/5p، MIR-24 PI3K-Akt، focal adhesion، MAPK، Wnt، TGF-B تنظیم‌کننده‌های سلول‌های T و مسیر پیام‌رسانی استروژن در ارتباط هستند و این مسیرها می‌توانند در سقط‌های خودبخودی مؤثر باشند. خانواده MIR-34 به طور مستقیم P53 را تنظیم می‌کند و در آپوپتوز و تکثیر سلولی نقش دارد، ارتباط P53 با سقط‌های خودبخودی مشخص شده است و در بیماران مبتلا به سقط بیان بالای P53 دیده شده است. مطالعات دیگر نیز نشان داده است که MIR-141 ممکن است با در رشد و تکثیر سلولی و آپوپتوز به وسیله کاهش بیان PTEN مؤثر باشد و MIR-141 نقش مهمی در لانه‌گزینی رویان دارد. بیان MIR-24 در افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دچار اختلال می‌شود و همراه با سایر عوارض حاملگی می‌باشد. علاوه بر این MIR-24 باعث کاهش بیان Myc می‌شود که یک فاکتور کلیدی در لانه‌گزینی رویان می‌باشد. در یک مطالعه ارتباط پلی مورفسیم‌های MIR-34a-3p/5p، MIR-141-3p/5p، MIR-24 در جمعیت چینی با سقط خودبخودی بررسی شد و مشخص شد که این پلی مورفسیم‌ها می‌توانند به عنوان یک مارکر زیستی برای پیشگیری از سقط‌های خودبخودی استفاده شوند [۴۶].

MIR-125: ژن MIR-125a در ناحیه کروموزومی 19q13.41 واقع شده است و با ژن‌های MIR-99B و



می‌باشد. همچنین LIFR به عنوان محرک مسیره‌های سیگنالینگ Jak/StAT, MAPK, P13-kinase عمل می‌کند. ERBB2 فاکتور رشد اپیدرمی است و تکثیر و تمایز سلول‌های تروفوبلاست در جفت را در مرحله پس از لانه‌گزینی تنظیم می‌کند. همچنین رگ‌زایی و تهاجم را با افزایش VEGF افزایش می‌دهد [۴۹]. شکل ۳ نمایی شماتیک از محل قرارگیری ژن MIR-125a را بر روی کروموزوم ۱۹ انسان نشان می‌دهد.

MIR-let7e در یک خوشه ژنی قرار دارد [۴۷]. تأثیر MIR-125a روی فرآیندهایی نظیر مرگ سلولی^{۲۴} و رشد سلولی از طریق مسیره‌های وابسته به P53 انجام می‌شود [۴۸]. دو ژن هدف MIR-125a شامل ERBB2 و LIF می‌باشد، در حاملگی‌های عادی ژن LIF در رشد و تمایز سلول‌های تروفوبلاست در جفت نقش دارد. LIF بر روی سلول‌ها به واسطه اتصال هتروداپمیری به LIFR عمل می‌کند و شامل دو پروتئین LIFR و gp130

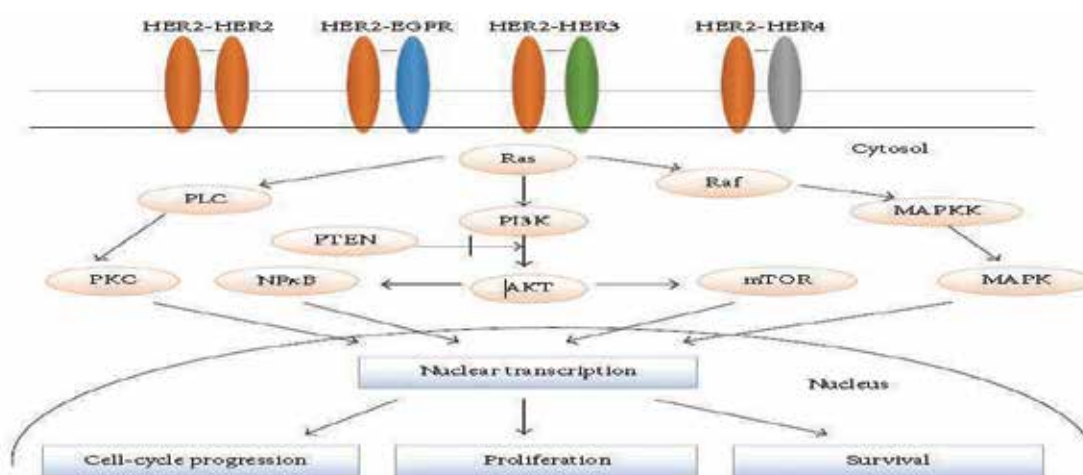


شکل ۳ - موقعیت کروموزومی ژن MIR-125a بر روی کروموزوم ۱۹ انسان از پایگاه NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

نیز نامیده می‌شوند [۵۱]. اعضای این خانواده می‌توانند مسیره‌های PKC، PI3K/Akt، MAPK فعال نمایند که همه این مسیره‌ها در فرآیندهای رشد و نمو، تمایز و تهاجم نقش دارند. در صورت بیان بیش از حد، ERBB2 می‌تواند حتی در عدم حضور لیگاند فعال شود و تنظیم مسیره‌های رشد را مختل نماید [۵۲]. شکل ۸-۱ تعامل آن را با مسیره‌های پیام‌رسانی نشان می‌دهد.

ERBB2 □

این ژن جز خانواده گیرنده‌های فاکتور رشد اپیدرمی انسان (HER) می‌باشد، که شامل ۴ عضو HER1-4 است. اعضای این خانواده در تنظیم رشد و نمو و تمایز از طریق برخی از مسیره‌های پیام‌رسانی فعالیت می‌کنند [۵۰]. به دلیل این که اولین بار در اریتروبللاست‌های مرغ کشف شد به نام ERBB2



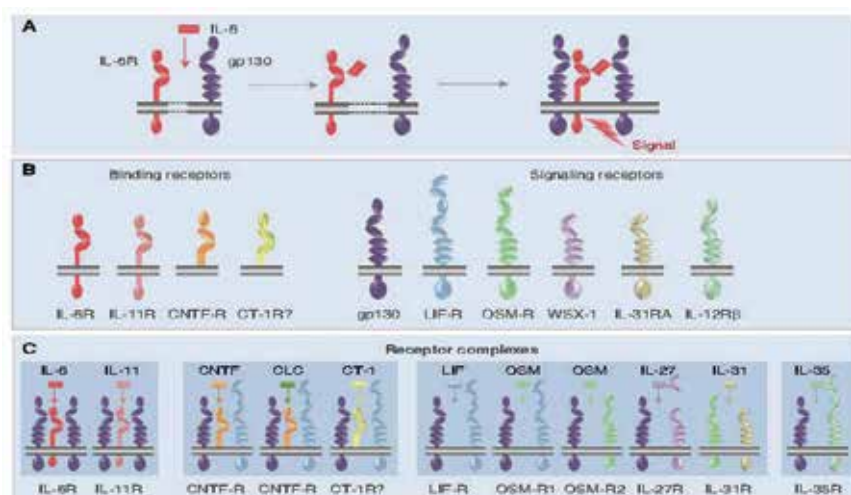
شکل ۴- عملکرد و ارتباط ERBB2 با مسیره‌های پیام‌رسانی سلولی

خانواده اینترلوکین ۶ (IL-6) گروهی از سیتوکین‌های متشکل از IL-6، IL-11، فاکتور نوروتروفیک مویی (CNTF)^{۲۶}، عامل مهارکننده لوسمی (LIF)، انکوستاتین^{۲۷} (OSM)، کاردیوتروفین-۱ (CT-1)^{۲۸}، کاردیوتروفین سیتوکین مانند (CLC)^{۲۹} و IL-27 است. شکل ۵ اعضای این خانواده را نشان می‌دهد [۵۴].

(هترودایمیریزاسیون گیرنده‌های HER سبب فعال سازی مسیره‌های پیام رسانی PI3/Akt و MAPK می‌شود که در تکثیر، تمایز و رشد سلولی نقش مهمی دارند) [۵۳].

LIF²⁵ □

LIF عضو خانواده اینترلوکین ۶ می‌باشد. سیتوکین‌های



شکل ۵: اعضای خانواده اینترلوکین ۶: اعضای این خانواده هر کدام حاوی دو بخش می‌باشند که شامل یک گیرنده اتصال دهنده و یک گیرنده سیگنال می‌باشند و اتصال این دو جزء با هم کمپلس گیرنده را ایجاد می‌نماید، جهت توضیحات بیشتر به متن مراجعه شود [۵۴].

عملکردهای غیر طبیعی دیگر نقش دارند. از بین رفتن فعالیت‌های این خانواده منجر به بیماری‌های خود ایمنی می‌شود. سطح اینترلوکین‌های ۶ در طی التهاب بسیار افزایش پیدا می‌کند. IL-6 و sIL-6 می‌توانند به gp130 متصل شوند. پس gp130 و sIL-6 می‌توانند به عنوان بافر در خون عمل نمایند، زیرا gp130 توسط بسیاری از

همه این سیتوکین‌ها عضو یک خانواده هستند زیرا گیرنده هر سیتوکین شامل یکی از اعضای این خانواده (IL-6 و IL-11) و زیر واحد gp130 می‌باشند. اعضای این خانواده در فرآیندهایی مثل واکنش فاز حاد کبدی^{۳۰}، در تحریک سلول B^{۳۱}، در تنظیم تعادل سلول‌ها بین سلول‌های تنظیم کننده، در تنظیمات متابولیکی و

- 25- Leukemia Inhibitory Factor
- 26- Ciliary NeuroTrophic Factor
- 27- OncoStatin M
- 28- Cardiotrophin
- 29- Cardiotrophin-Like cytokine
- 30- Hepatic acute phase reaction
- 31- B-cell stimulation



این مسیر خاموش می‌شود و دیگر قادر به فعالیت نیست [۵۵].

چند شکلی rs12976445 که در MIR-125a رخ می‌دهد باعث کاهش بیان MIR-125a بالغ می‌شود، در نتیجه ژن‌های هدف آن که LIF و ERBB2 می‌باشند دچار افزایش بیان می‌شوند. بیان اکتوپیک و نابجای LIF تقریباً فعالیت LIF را متوقف کرده و باعث اختلال در رشد و تمایز در مرحله پس از لانه‌گزینی می‌شود. همچنین بیان اکتوپیک ERBB2 ممکن است باعث سنتز بیش از حد VEGF در استروما و تروفوبلاست می‌شود که منجر به تهاجم و رشد نابجای سلول‌های تروفوبلاست می‌شود [۴۹]. این چند شکلی شامل تغییر نوکلئوتید C به T است و ۱۵ نوکلئوتید پایین دست pri-MIR-125a و ۶۸ نوکلئوتید بالادست MIR-125a 5p می‌باشد [۴۷]. ارتباط این چند شکلی با سقط جنین در برخی جمعیت‌ها بررسی شده است و ارتباط آن با سقط مکرر خودبخودی به اثبات رسیده است [۴۹ و ۵۶].

سلول‌ها تولید می‌شود و در صورت اتصال IL-6 منجر به ایجاد التهاب می‌شود ولی اتصال sIL-6 به gp130 منجر به خنثی کردن فعالیت بیش از حد IL-6 در شرایط غیر التهابی می‌شود. اعضای این خانواده به عنوان محرک مسیر JAK-STATE عمل می‌کنند. شکل ۱-۱۰ این نقش بافری را نشان می‌دهد [۵۴].

□ مسیر پیام‌رسانی JAK-STATE

این مسیر در بسیاری از فرآیندهای سلولی نقش دارد. در بارداری و اوایل رشد و نمو جنین، باعث حفاظت جنین می‌شود. در بیرون از اپی‌بلاست فعال شدن این مسیر نیاز نیست و فعال شدن آن می‌تواند باعث آسیب به جنین و همچنین سقط آن شود، زیرا مانع پیشرفت گاسترولاسیون می‌شود. این مسیر یکی از اصلی‌ترین مسیرهای تنظیم‌کننده رونویسی است. فعال شدن بیش از حد آن می‌تواند منجر به بدخیمی شود و برای جلوگیری از ایجاد بدخیمی

Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs12976445

RefSNP	Allele
Organism: human (<i>Homo sapiens</i>)	Variation Class: SNV: single nucleotide variation
Molecule Type: Genomic	RefSNP Alleles: C/T (FWD)
Created/Updated in build: 121/151	Allele Origin:
Map to Genome Build: 108/Weight 1	Ancestral Allele: C
Validation Status:	Variation Viewer:
Citation: PubMed LitVar ^{NEW}	Clinical Significance: NA
	T=0.4349/2178 (1000 Genomes)
MAF/MinorAlleleCount:	C=0.4277/1953 (GO-ESP)
	C=0.4698/58998 (TOPMED)

شکل ۶ اطلاعات آللی مارکر rs12976445 به دست آمده از پایگاه NCBI (آل C به عنوان آلل نژادی می‌باشد) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

میکرو RNA ها رخ می‌دهد باعث تغییر در بیان آن‌ها می‌شود و این موضوع نقش این ترکیبات را برجسته نموده است و به دلیل این که در شرایط پاتولوژیک مختلف بیان این میکرو RNA ها دچار تغییرات مختلفی می‌شود، از این‌رو بررسی تغییرات بیان میکرو RNA ها می‌تواند به عنوان مارکرهای زیستی برای تشخیص، پیشگیری و یا درمان سقط جنین مورد توجه قرار گیرد.

□ نتیجه‌گیری

میکرو RNA ها در تنظیم فرآیندهای مختلف رشد و تمایز دخالت دارند و هرگونه اختلال در سنتز، بیان یا عملکرد میکرو RNA ها می‌تواند باعث بیماری‌های مختلف از جمله سقط‌های جنین و حتی ناباروری شود. تغییرات تک نوکلئوتیدی که در ژن‌های رمز کننده این

References

- 1- A. Garcia-Enguidanosa, M.E.C., J. Valeroc, S. Lunaa, V. Dominguez-Rojas (2001). Risk factors in miscarriage: a review. *Reproductive Biology* 102, 111-119.
- 2- Vallian Borujeni, S. (2014). Assessment of recurrent miscarriage and the importance of genetic factors. *Laboratory Quarterly and Diagnosis* 25, 36-41.
- 3- Rasch, V. (2003). Cigarette, alcohol, and caffeine consumption: risk factors for spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand* 82, 182-188.
- 4-Kutteh, W.H. (2014). Recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am* 41, xi-xiii.
- 5-Kutteh, W.H. (2015). Novel strategies for the management of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med* 33, 161-168.
- 6-Shahine, L., and Lathi, R. (2015). Recurrent pregnancy loss: evaluation and treatment. *Obstet Gynecol Clin North Am* 42, 117-134.
- 7-M. B. Khadzhieva, N.N.L., I. V. Volodin, K. V. Morozova, L. E. Salnikova. (2014). Association of oxidative stress-related genes with idiopathic recurrent miscarriage. *Free Radical Research* 48, 534-541.
- 8-Holly B. Ford, D.J.S. (2009). Recurrent Pregnancy Loss: Etiology, Diagnosis, and Therapy. *Obstetrics and Gynecology* 2 76-83.
- 9-Johnstone, Y.I.a.E. (2018). The male contribution to recurrent pregnancy loss. *Transl Androl Urol* 7, 317-327.
- 10-Harvey A. Risch, N.S.W., E. Aileen Clarke and Anthony N. Miller (1988). Risk factors for spontaneous abortion and its recurrence. *American Journal of Epidemiology* 128, 420-430.
- 11-Lathi, L.S.a.R. (2015). Recurrent pregnancy loss: evaluation and treatment. *Obstet Gynecol Clin North Am* 42, 117-134.
- 12-Vidya A. Tamhankar, B.L., Junhao Yan, Tin-Chiu Li. (2015). A Comparison of Pattern of Pregnancy Loss in Women with Infertility Undergoing IVF and Women with Unexplained Recurrent Miscarriages Who Conceive Spontaneously. *Obstetrics and Gynecology International* 2015, 1-6.
- 13-al., L.D.e. (2016). Association of miR-34a-3p/5p, miR-141-3p/5p, and miR-24 in Decidual Natural Killer Cells with Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion. *Clinical Reserch* 22, 922-929.
- 14-S Feodor Nilsson, P.A., K Strandberg-Larsen and A-M Nybo Andersen (2014). Risk factors for miscarriage from a prevention perspective: a nationwide follow-up study. *Obstetricians and Gynaecologists* 121, 1375-1384.
- 15-N Maconochie, P.D., S Prior, R Simmons (2006). Risk factors for first trimester miscarriage—results from a UK-population-based case-control study. *Obstetrics and Gynaecology*, 170-186.
- 16-Yoontae Lee, M.K., Jinju Han, Kyu-Hyun Yeom, Sanghyuk Lee, Sung Hee Baek and V Narry Kim (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO* 23, 4051-4060.
- 17-Gregory, S.L.a.R.I. (2015). MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nature reviews cancer*. 15, 321-333.
- 18-Han J, L.Y., Yeom K-H, Nam J-W, Heo I, Rhee J-K, et al. (2006). Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. *Cell* 125, 887-901.
- 19-Heo I, H.M., Lim J, Yoon M-J, Park J-E, Kwon SC and et al. (2012). Mono-uridylation of pre-microRNA as a key step in the biogenesis of group II let-7 microRNAs. *Cell* 151, 521-532.
- 20-Lee HY, D.J. (2012). TRBP alters human precursor microRNA processing in vitro. *RNA* 18, 2012-2019.
- 21-Kim Y, Y.J., Lee JH, Cho J, Seo D, Kim J-S, et al. (2014). Deletion of human tarbp2 reveals cellular microRNA targets





and cell-cycle function of TRBP. *Cell reports*. 9, 1061-1074.

22-Seyed Mohammad Amin Kormi, S.A., Amir Azizi, Mina Bakhshali Nezhad, Samaneh Heidarzade, Fatemeh Karimi, Pedram Zolfaghari (2017). *MicroRNA and Cancer Treatment: A Commentary*. Cancer Press 3, 13-15.

23-Dragos Cretoiu, J.X., Junjie Xiao, Nicolae Suciuc and Sanda Maria Cretoiu (2016). *Circulating MicroRNAs as Potential Molecular Biomarkers in Pathophysiological Evolution of Pregnancy*. *Disease Markers* 2016, 1-7.

24-Martina Barchitta, A.M., Annalisa Quattrocchi, Ottavia Agrifoglio, and Antonella Agodi (2017). *The Role of miRNAs as Biomarkers for Pregnancy Outcomes: A Comprehensive Review*. *International Journal of Genomics* 2017, 1-12.

25-Lujambio A, L.S.W. (2012). *The microcosmos of cancer*. *Nature* 482, 347-355.

26-Davis-Dusenbery BN, H.A. (2010). *Mechanisms of control of microRNA biogenesis*. *The journal of biochemistry* 148, 381-392.

27-Im H-I, K.P.J. (2012). *MicroRNAs in neuronal function and dysfunction*. *Trends in neurosciences* 35, 325-334.

28-Lujambio A, C.G., Villanueva A, Ropero S, Sánchez-Céspedes M, Blanco D, et al. (2008). *A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis* *Proceedings of the national academy of sciences*. 105, 1356-1361.

29-Yufeng Qin, Y.X., Wei Wu, Xiumei Han, Chuncheng Lu, Guixiang Ji, Daozhen Chen, Honghua Wang, Ling Song, Shoulin Wang, Xinru Wang (2012). *Genetic variants in microRNA biogenesis pathway genes are associated with semen quality in a Han-Chinese population*. *Reprod Biomed Online* 24, 454-461.

30-Jung, Y.W., Jeon, Y.J., Rah, H., Kim, J.H., Shin, J.E., Choi, D.H., Cha, S.H., and Kim, N.K. (2014). *Genetic variants in microRNA machinery genes are associated [corrected] with idiopathic recurrent pregnancy loss risk*. *PLoS One* 9, e95803.

31-Ryan B. M, R.A.I., Harris C. C (2010). *Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research*. *Nature reviews cancer* 10, 389-402.

32-Rezaei H, V.S. (2011). *BanI/D13S141/D13S175 represents a novel informative haplotype at the GJB2 gene region in the Iranian population*. *Cellular and molecular neurobiology* 31, 749-754.

33-Fazeli Z, V.S. (2012). *Phylogenetic relationship analysis of Iranians and other world populations using allele frequencies at 12 polymorphic markers*. *Molecular biology reports* 39, 11187-11199.

34-Sedghi M, V.S. (2016). *D5S351 and D5S1414 located at the spinal muscular atrophy critical region represent novel informative markers in the Iranian population*. *Meta gene* 7, 9-16.

35-Ying Li, C.-M.L., Xue-Qin Wang, Xu Ma, Lu Zhang, Xiao-Dan Lv, Xing Su, Shi Tian, Hong-Fei Xia (2016). *A SNP in pri-miR-10a is associated with recurrent spontaneous abortion in a Han-Chinese population*. *Oncotarget* 7, 8208-8222.

36- Xing Su, Y., Ying Li, Jing-Li Cao, Xue-Qin Wang, Xu Ma and Hong-Fei Xia (2015). *The polymorphism of rs6505162 in the MIR423 coding region and recurrent pregnancy loss*. *Reproduction* 150, 65-76.

37-Fatemeh Shakarami, R.M., Shohreh Zare Karizi and Hanieh Zare (2016). *MIR17HG Gene Polymorphism and the Risk of Recurrent Spontaneous Abortion*. *Gene Cell Tissue* 3, 1-4.

38-HyungChul Rah, K.W.C., Ki Han Ko, Eun Sun Kim, Jung Oh Kim, Jung Hyun Sakong, Ji Hyang Kim, Woo Sik Lee and Nam Keun Kim (2017). *miR-27a and miR-449b polymorphisms associated with a risk of idiopathic recurrent pregnancy loss*. *PLoS One* 12, 1-14.

39-Chun-Yan Wang, S.-G.W., Jia-Li Wang, Li-Ying Zhou, Hong-Jun Liu and Yi-Feng Wang (2016). *Effect of miRNA-27a and Leptin Polymorphisms on Risk of Recurrent Spontaneous Abortion*. *Clinical Reserch* 22, 3514-3522.

40-Agrawal, F.P.a.S. (2015). *Recurrent miscarriage and micro-RNA among north Indian women*. *Reproductive Sciences* 22, 410-415.



41-Young Joo Jeon, Y.S.C., HyungChul Rah, Su Yeoun Kim, Dong Hee Choi, Sun Hee Cha, Ji Eun Shin, Sung Han Shim, Woo Sik Lee and Nam Keun Kim (2012). Association study of microRNA polymorphisms with risk of idiopathic recurrent spontaneous abortion in Korean women. *Gene* 494, 168-173.

42-Young Joo Jeon, S.Y.K., HyungChul Rah, Dong Hee Choi, Sun Hee Cha, Tae Ki Yoon, Woo Sik Lee, Sung Han Shim and Nam Keun Kim (2012). Association of the miR-146aC>G, miR-149T>C, miR-196a2T>C, and miR-499A>G polymorphisms with risk of spontaneously aborted fetuses. *American Journal of Reproductive Immunology* 68, 408-417.

43-HyungChul Rah, D., Young Joo Jeon, Sung Han Shim, Sun Hee Cha, Dong Hee Choi, Hwang Kwon, Ji Hyang Kim, Ji Eun Shin and Nam Keun Kim (2013). Association of miR-146aC>G, miR-196a2T>C, and miR-499A>G polymorphisms with risk of premature ovarian failure in Korean women. *Reproductive Sciences* 20, 60-68.

44-Sung Hwan Cho, K.W.C., Jung Oh Kim, Hyogeun Jang, Jung Ki Yoo, Youngsok Choi, Jung Jae Ko, Ji Hyang Kim, Yoshihiro Nishi, Toshihiko Yanase, Woo Sik Lee and Nam Keun Kim (2016). Association of miR-146aC>G, miR-149C>T, miR-196a2T>C, and miR-499A>G polymorphisms with risk of recurrent implantation failure in Korean women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 202, 9-14.

45-Mona Amin-Beidokhti, R.M., Shohreh Zare-Karizi, Fatemeh Karamaldin, Mir Davood Omrani, Naser salsabili (2015). To Study the Association of miR-196a2 rs11614913 Polymorphism with the Risk of Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss. *Arak Medical University Journal (AMUJ)* 18, 11-17.

46-al., L.D.a.e. (2016). Association of miR-34a-3p/5p, miR-141-3p/5p, and miR-24 in Decidual Natural Killer Cells with Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion. *Med Sci Monit* 22, 922-929.

47-Lehmann T. P, K.K., Ibbs M, Zawierucha P, Grodecka-Gazdecka S, Jagodziński P. P (2013). rs12976445 variant in the pri-miR-125a correlates with a lower level of hsa-miR-125a and ERBB2 overexpression in breast cancer patients. *Oncology letters* 5, 569-573.

48-Leotta M, B.L., Raimondi L, Ronchetti D, Di Martino MT, Botta C, et al. (2014). A p53-Dependent Tumor Suppressor Network Is Induced by Selective miR-125a-5p Inhibition in Multiple Myeloma Cells. *Journal of cellular physiology* 229, 2106-2116.

49-Yi Hu, C.-M.L., Lu Qi, Tian-Zhu He, Liu Shi-Guo, Chan-Juan Hao, Yi Cui, Ning Zhang, Hong-Fei Xia and Xu Ma (2011). Two common SNPs in pri-miR-125a alter the mature miRNA expression and associate with recurrent pregnancy loss in a Han-Chinese population. *RNA Biol* 8, 861-872.

50-Mitri Z, C.T., O'Regan R. (2012). The HER2 receptor in breast cancer: pathophysiology, clinical use, and new advances in therapy. *Chemotherapy research and practice* 20, 1-8.

51-Schechter AL, S.D., Vaidyanathan L, Decker SJ, Drebin JA, Greene MI, et al (1984). The neu oncogene: an erb-B-related gene encoding a 185,000-Mr tumour antigen. *Nature* 312, 513-516.

52-Y., Y. (2001). Biology of HER2 and its importance in breast cancer. *Oncology letters* 61, 1-13.

53-Iqbal, N.I.a.N. (2014). Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications. *Molecular biology international*. 2012, 1-10.

54-Rose-John, S. (2017). Interleukin-6 Family Cytokines. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 10, 1-18.

55-Zandstra, K.O.a.P.W. (2015). LIF signaling in stem cells and development. *Development* 142, 2230-2236.

56-Yi Hu1, Z.-H.H., Chun-Mei Liu, Shi-Guo Liu, Ning Zhang, Kun-Lun Yin, Lu Qi, XuMa and Hong-Fei Xia (2014). Functional study of one nucleotide mutation in pri-miR-125a coding region which related to recurrent pregnancy loss. *PLoS One* 9, e114781.

